

CARACTÈRES PHISIOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES DES ANOURES EN RAPPORT AVEC LEUR HISTOIRE ÉVOLUTIVE ET PALÉOGÉOGRAPHIQUE DEPUIS LE MÉSOZOÏQUE

J. M. Cei

Après l'esquisse si complète du Prof. R. Laurent, Mr. le Prof. Th. Monod a bien voulu que l'on donne ici une extension un peu plus grande aux résultats de nos recherches dans le domaine de la taxonomie biochimique ; ces résultats aboutissent à des conclusions, chez les Anoures actuels, qui viennent se superposer d'une façon parfois étonnante, aux conclusions de la morphologie et aux données déductives qui se rattachent aux études paléogéographiques, géophysiques et biogéographiques, surtout dans le cas des anciennes liaisons intercontinentales.

Je dois dire d'abord que nos chercheurs, pendant ces deux dernières années, avaient été provoqués surtout par les travaux fort intéressants de Morescalchi (1966-1972) qui a montré une identité tout à fait remarquable entre les caryotypes des Pélobatidés et des Cératophrydés. Ces derniers, comme nous le savons, sont des Anoures néotropicaux d'une lignée leptodactylienne bien définie, quoique spécialisée. Comme la sérologie nous a toujours donné des éléments critiques très utiles, au moyen des techniques photoréfectométriques des précipitines, en réactions croisées, et sur la base d'une expérience de plus de dix ans, nous avons songé à appliquer ces méthodes à ce thème nouveau, qui, en partant des affinités présentes des antigènes protéiques du sérum, devait nous conduire aux origines phylétiques des groupes en discussion, en recherchant indirectement dans le temps le code d'information génétique commune qui détermine, ou bien qui a déterminé pendant des millions d'années, la synthèse protéique, base de la spécificité des antigènes.

Il ne serait pas opportun évidemment de nous étendre ici sur des détails techniques, qu'on a déjà signalé d'ailleurs dans plusieurs travaux antérieurs (Cf. : Boyden et Coll.). Je passe tout de suite aux résultats. Au moyen de nombreuses réactions croisées, nous avons observé une affinité sérologique vraiment frappante entre Discoglossidae et Pelobatidae, entre les genres *Discoglossus* et *Bombina* d'un côté et *Pelobates* et *Scaphiopus* de l'autre. Ce sont des pourcentages relatifs d'antigènes communs entre 43 et 80 % qui correspondent à des distances sérologiques propres aux réactions entre membres de la même famille, ou, plus souvent encore, entre membres très évolués du même genre. Aux Pélobatidés se rattache aussi, par leur distance sérologique, les *Xenopus* africains parmi les Pipidae, avec des pourcentages d'antigènes communs entre 60 et 66 %, ce qui représente une expression d'affinité génétique évidente. Si nous considérons ces groupes du point de vue de leur lignée ancestrale, on s'aperçoit qu'ils correspondent à cette souche laurasienne mésozoïque qui a été évoquée précédemment ; l'on a songé à retrouver des similarités phylétiques avec les Pipidae austraux, par ces formes très particulières, les Palaeobatrachidae du Crétacé et peut-être du Jurassique des régions boréales. Nos conclusions soulignent donc des origines mésozoïques communes, très probables, entre Discoglossidés et Pélobatidés, ce qui a déjà été affirmé, depuis Noble (1931) par plusieurs auteurs, entre autres par Inger (1967), Kluge et Farris (1969), et tout récemment par Estes (1970).

Mais nos recherches ont complètement échoué dans leur but initial de découvrir des affinités entre Cératophrydés néotropicaux et Pelobatidae holarctiques, caryologiquement si semblables. La distance

sérologique est fort remarquable entre ces Anoures, dont les fossiles sont réciproquement inconnus dans leurs régions de distribution actuelle. (Fig. 1).

Les pourcentages rencontrés dans de nombreuses réactions croisées sont toujours compris en effet entre 25 et 33 %, résultats comparables aux valeurs obtenues entre Discoglossidés et Cératophrydés, qui varient entre 24 et 27 %, et même aux pourcentages rencontrés entre Pélobatidés ou Discoglossidés et d'autres genres de Leptodactylidés, comme *Odontophrynus* ou *Leptodactylus* (20-24 %).

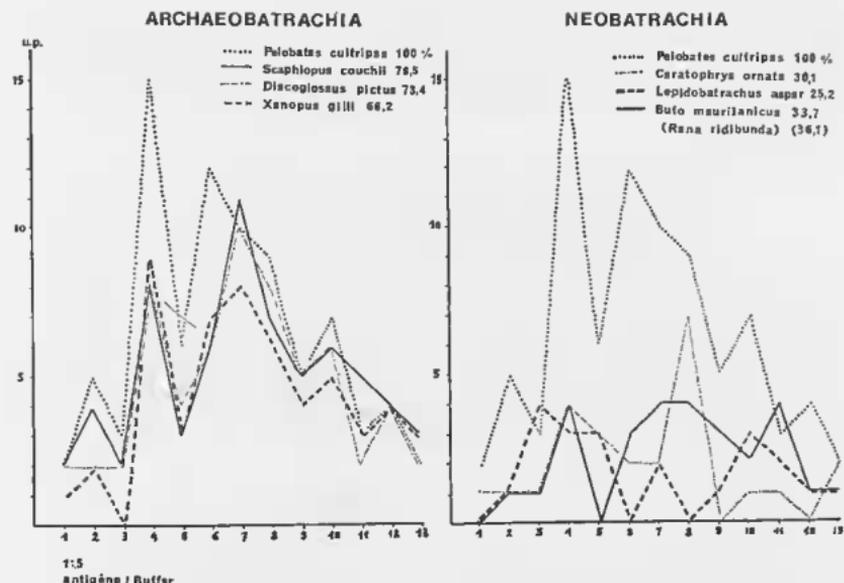


FIG. 1. — Exemples de distances sérologiques entre Pelobatidés et quelques représentants des Archaeobatrachia et Neobatrachia. Le pourcentage homologue (100 %) a été donné par la réaction de précipitines entre un sérum immunitaire anti-*Pelobates cultripes* (en lapin) et les mêmes antigènes sériques du *Pelobates*. Les pourcentages hétérologues relatifs aux autres systèmes spécifiques de protéines ont été indiqués graphiquement par les courbes correspondantes aux réactions avec le même sérum anti-*Pelobates cultripes*. Les courbes ont été dessinées au moyen des valeurs photoréfléctométriques (en unités photoréfléctométriques : U.P.) correspondants aux différents degrés de turbidités mesurés en suivant les dilutions progressives des antigènes, jusqu'à la zone d'excès d'anticorps.

Il faut rappeler ici que même quelques réactions entre Leptodactylidés donnent des pourcentages similaires : par exemple entre *Ceratophrys ornata* et *Odontophrynus* ou *Leptodactylus* on observe des valeurs de 33 ou 34 %, ainsi qu'entre *Telmatobius* et *Caudiverbera* (*Calyptocephalla*), ou *Telmatobius* et *Pleurodema* ; au contraire entre *Telmatobius* de la Patagonie extra-andine et le mystérieux *Telmatobius* du Chili, les relations sérologiques sont très intimes. Il paraîtrait donc que l'histoire phylétique du « stock » gondwanien des Leptodactylidés doit s'être écoulée pendant un temps très considérable, aboutissant à des niveaux de différenciation génétique très élevés, tout au moins pour les protéines sériques. Peut être s'agit-il d'un groupe à évolution tachytétique, ce qui semble se vérifier cependant chez les Ranidae, où nous avons enregistré des pourcentages assez bas de réactions hétérologues de précipitines, entre *Rana ridibunda* ou *R. grayi* et *Pyzicephalus adpersus* (33-38 %), et jusqu'entre *Rana ridibunda* et *Ptychadaena superciliaris* (42 %).

Pour en revenir aux Leptodactylidés, les faits discutés dans l'esquisse paléogéographique de Laurent nous apportent des arguments très suggestifs sur leur origine très ancienne et indépendante, probablement néoéocène et sans doute antérieure au Crétacé Supérieur. Cette hypothèse est en accord avec le haut degré de différenciation sérologique et morphologique présentés par les groupes actuels, et en même temps avec leur dispersion ancestrale, réfléchi à présent dans leurs formes relictuelles, comme dans le cas des *Heleophryne* africains limités aux Drakensberg et au Cap. A ce propos je désire souligner d'abord — en priant de m'excuser pour cette digression — que l'on vient de découvrir au Chili, dans la forêt à *Nothofagus* au sud de Valdivia, une nouvelle espèce de *TelmatoBufo*, *T. australis*, dont on a heureusement capturé les têtards, jusqu'ici inconnus pour ce genre. Leur similarité morphologique et écologique avec les têtards de *Heleophryne* est frappante, (Fig. 2) et nous fait immédiatement songer à des relations très anciennes entre ces Leptodactylidés primitifs, ce qui nous ramène fondamentalement aux liaisons intercontinentales pré-albiennes et à des routes de communication antérieures au rift « afro-brésilien ».



FIG. 2. — Distribution actuelle des genres relictuels *TelmatoBufo* et *Heleophryne*, leptodactylidés de souche gondwanienne.

Si nous revenons à la divergence existant entre les résultats constants et significatifs de la sérologie et l'évidence également certaine des études comparatives du caryotype, du point de vue de nos observations, il faut remarquer qu'il n'y aurait pas de relations directes entre les lignées évolutives leptodactyliennes et la lignée laurasienne qui, à partir d'une souche primitive de Discoglossidés, aurait atteint les étapes des Pélobatidés fossiles et actuels. J'aurais désiré également une explication satisfaisante des conditions évolutives signalées par Bogart (1970) pour le caryotype de plusieurs représentants actuels des Leptodactylidés, comme *Eleutherodactylus*, *Syrrophus* et *Eupoophus*, qui présentent des séries diploïdes très élevées de chromosomes, avec beaucoup de petits chromosomes acrocentriques, ce qui représente cette fois un caractère primitif des Discoglossidés. Ainsi, parmi ces derniers nous trouvons *Alytes* avec 38 chromosomes, dont 2 acrocentriques, pendant qu'*Eleutherodactylus ventrimarmoratus* se caractérise par son caryotype à 36 chromosomes en majorité acrocentriques et *Eupoophus rosus* par son caryotype à 30 chromosomes avec 8 acrocentriques, dont 3 apparemment microchromosomes. Je viens d'apprendre d'ailleurs qu'une interprétation différente de l'accroissement du nombre

chromosomique chez ces Leptodaetylidés aurait été proposée tout récemment par Morescalchi (travail à l'impression, comm. pers.) en y envisageant surtout des phénomènes secondaires de fission. D'autre part, des genres primitifs de Leptodaetylidés tels que *Batrachyla*, *Caudiverbera* (= *Calyptocephalella*), *Telmatobius* ou *Thoropa*, présentent des caryotypes à 26 chromosomes, sans chromosomes acrocentriques, qui se rattachent aux caryotypes à 26 chromosomes observés chez les Ceratophrydés, absolument convergents avec les caryotypes de *Pelobates*. Il s'agit toutefois de genres de Leptodaetylidés complètement différents dès le Paléocène de Patagonie et sans doute issus d'une souche gondwanienne beaucoup plus ancienne, ce que l'on a déjà souligné. J'ajoute à ce point que le caractère éthologique indiqué par Laurent comme départageant à peu près les groupes archaïques antérieurs au Crétacé des familles soi-disant modernes, c'est à dire l'amplexus lombaire des premiers, a été observé chez Hecleophryinae, chez Leptodaetylidae australasiens, mais aussi dans quelques genres primitifs de Leptodaetylidae néotropicaux, comme *Telmatobius somuncurensis* et *Batrachyla*, en étant toujours absent chez Ceratophrydés.

Je ne veux pas achever cet exposé très sommaire sans rappeler quelques autres données empruntées à une autre ligne de recherches: la spécificité des activités enzymatiques de la peau, système d'échange biologiques fondamentaux entre les Batraciens et leur milieu. Parmi les substances très variées que l'on y trouve, notre intérêt a été particulièrement éveillé par les amines biogènes dérivées par hydroxylation, décarboxylation et transméthylation de certains amino-acides, comme le tryptophane, la tyrosine ou l'histidine, mais surtout par les polypeptides (deca- et endecapeptides) synthétisés dans la peau et présentant une puissante action hypotensive, comme l'ont démontré Erspamer et ses collaborateurs.

Nous pouvons remarquer qu'on a rencontré ces polypeptides chez les Leptodaetylidés sud-américains, les *Physalaemus* et plusieurs *Leptodaetylus*, mais aussi chez les Leptodaetylidés australiens, par exemple *Uperoleia*. Ce sont des substances tout à fait semblables, comme la physalaémine ou l'uperoléine, présentant des propriétés physiologiques et pharmacologiques similaires. Il nous paraît intéressant de souligner que, chez les soi-disant Hyliidés australiens (ou Nyctimystinae), on rencontre aussi des polypeptides, comme la caeruleine, obtenue chez *Hyla caerulea* (à présent *Litoria*), qui se rapportent directement aux polypeptides de la peau de certains *Leptodaetylus* néotropicaux, par exemple



FIG. 3. — Similitude biochimique des systèmes de synthèse peptidique dans la peau des Phyllo-médusinés néotropicaux et des Nyctimystinés australiens, lignées convergentes nées du « stock » leptodaetyléen mésozoïque primitif.

ceux du groupe *pentadactylus*. Chez les Hyliidés sud-américains dont on a étudié l'épanouissement évolutif actuel et où il nous semble remarquable de constater la présence, chez plusieurs espèces, d'une amine phénolique, la leptodactyline, si caractéristique des Leptodactylidés ; on ne retrouve ces polypeptides que chez les Phyllomedusinae spécialisés. Il s'agit d'un groupe arboricole fortement convergent morphologiquement avec les « Hyliidés » australiens tout au moins pour le complexe *caeruleus*, et, peut être, en relation ancestrale lui aussi avec des « stocks » leptodactylidés (ou même bufonides ?), ce que nous avons observé dans des travaux antérieurs par des recherches sérologiques préliminaires. Il suffit d'observer ci-dessous les séquences des chaînes peptidiques de la caeruléine (présente chez *Xenopus*, *Litoria*, *Leptodactylus labyrinthicus*, *L. laticeps*, *L. rubido* ou *L. curtus*) et de la phyllo-caeruléine de *Phyllomedusa* (*sauvaggi*, *hypochondrialis*, *bicolor*, *dachnicolor*, etc.). Il est vraiment étonnant de constater que toute la différence structurale entre ces substances se concentre sur l'absence d'un seul amino-acide, dans la phyllo-caeruléine. (Fig. 3).

Que peuvent nous suggérer toutes ces données évidemment non fortuites, du point de vue de l'information génétique et au niveau de l'évolution des embranchements fossiles et actuels des Amphibiens ? Même ici, il faut le dire, ces aspects presque transitoires et terriblement dynamiques du métabolisme, quoiqu'étroitement spécifiques, peuvent rendre des services aux théories qui tentent d'expliquer les origines et les routes de dispersion suivies dans le passé par les Anoures.

Laurent a supposé que les soi-disant Hyliidae d'Australie (ou Nyctinystinae) descendent des Leptodactylidae autochtones. Et voici qu'ils partagent leurs systèmes de synthèse polypeptidique de la peau, et, de plus, qu'ils se rattachent sur ce point à leurs lointains parents d'Amérique du Sud, dont les Cycloranae et les Myobatrachinae semblent avoir gardé également beaucoup de codes ancestraux communs d'information génétique, lors de leur isolement si reculé dans le temps, après la séparation mésozoïque des continents austraux et l'effacement des voies de connexion antarctiques. En effet on ne saurait distinguer, comme nous l'avons dit, dans les chromatogrammes ou à l'analyse peptidique, la caeruléine de *Hyla caerulea* des polypeptides du tégument de certains *Leptodactylus* du Brésil ou d'Argentine.

On doit enfin signaler, pour souligner l'importance de ces caractères biochimiques comme indicateurs indirects des grandes lignées ou courants phylogénétiques et de leurs relations probables dans le temps et l'espace, que, par exemple, tous les Bufonides n'ont apparemment pas de polypeptides dans leur peau, si richement variée en amines biogènes dérivées surtout du tryptophane ; que les Ascaphidae (*Ascaphus*) y fabriquent, joint avec le 5-HT, un remarquable mélange polypeptidique, encore imparfaitement connu ; que Rhinophrynidae, Pelobatidae et Microhylidae se sont montrés jusqu'ici complètement dépourvus de ce genre de corps ; que Discoglossidae sont au contraire très riches en polypeptides particuliers à action hypotensive ; cependant que les Ranidés présentent de très grandes variations, en passant de groupes évolutifs tout à fait vierges de ces métabolites à des groupes fortement spécialisés pour la synthèse d'autres chaînes polypeptidiques, appartenant cette fois aux brady-chinines.

Il est évident qu'on peut suivre des caractères physiologiques ou métaboliques dans l'histoire d'un taxon relativement élevé comme chez les Anoures, et que leur présence, leur différenciation et leur complexité aboutissent à des critères de discussion à peu près parallèles aux critères morphologiques, même dans le domaine si hérissé de difficultés que constituent les problèmes des routes de dispersion et des relations d'affinité qui s'y rattachent.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANASTASI, A., BERTACCINI, G., CEI, J. M., DE CARO, G., ERSPAMER, V. and IMPICCIATORE, M., 1969 — Structure and pharmacological actions of Phyllocaerulein, a Caerulein-like nonapeptide: its occurrence in extracts of the skin of *Phyllomedusa sauvagei* and related *Phyllomedusa* species. *British Journ. Pharmacol.*, 37, 1 : 198-206.
- ANASTASI, A., BERTACCINI, G., CEI, J. M., DE CARO, G., ERSPAMER, V., IMPICCIATORE, M., and ROSEGHINI M., 1970. — Presence of Caerulein in Extracts of the skin of *Leptodactylus pentadactylus labyrinthicus*, and of *Xenopus laevis*. *British Journ. Pharmacol.*, 38, 1 : 221-228.
- ANASTASI, A., ERSPAMER, V. and BERTACCINI, G. — 1965 — Occurrence of bradykinin in the skin of *Rana temporaria*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 14 : 43-52.
- ANASTASI, A., ERSPAMER, V., BERTACCINI, G. and CEI, J. M., 1966. — Isolation, aminoacid sequence and biological activity of Phyllokinin (Bradikinin-isoleucyltyrosine O-sulphate), a bradykinin-like endecapeptide of the skin of *Phyllomedusa rohdei*. In: Hypotensive Peptides, Ed. E. G. Erdős, N. York Springer Verlag.
- ANASTASI, A., ERSPAMER, V. and BUCCI, M., 1971. — Isolation and amino-acid sequences of Alytesin and Bombesin, two Analogous active Tetradecapeptides from the skin of European Discoglossid Frogs. *Arch. Biochem. Biophys.*, 148, 2 : 443-446.
- ANASTASI, A., ERSPAMER, V. and CEI, J. M., 1964. — Isolation and aminoacid sequence of physalaemin, the main active polypeptide of the skin of *Physalaemus fuscumaculatus*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 108 : 341-348.
- ANASTASI, A., ERSPAMER, V. and ENDEAN, R., 1968. — Isolation and aminoacid sequence of caerulein, the active decapeptide of the skin of *Hyla caerulea*. *Arch. Biochem. Biochem.*, 125 : 57-58.
- ANASTASI, A., FALCONIERI ERSPAMER, G., 1970. — Occurrence of Phyllomedusin, a Physalaemin-like Decapeptide, in the skin of *Phyllomedusa bicolor*. *Experientia*, 26, 866.
- BERTACCINI, G., CEI, J. M. and ERSPAMER, V., 1965. — Occurrence of physalaemin in extracts of the skin of *Physalaemus fuscumaculatus* and its pharmacological actions on extra-vascular smooth muscle. *Brit. J. Pharmacol.*, 25 : 363-379.
- BOCART, J. P., 1970. — Systematic problems in the amphibian family Leptodactylidae (Anura) as indicated by karyotypic analysis. *Cytogenetics*, 9 : 369-383.
- BOYKIN, A., 1958. — Comparative Serology : Aims, Methods and Results. *Serol. and Biob. Comparison of Proteins*, 3-24.
- BOYDEN, A., 1963. — Precipitin Testing and Classification. *Systematic Zoology*, 12, 1 : 1-7.
- BOYDEN, A., 1967. — The place of precipitin testing among newer trends in taxonomy (Symposium on Newer Trends in Taxonomy held at New Delhi on January 28-30, 1966). *Bull. Nat. Inst. of Sciences of India* 34 : 108-117.
- BOYDEN, A. and DE FALCO, J. R., 1943. — Report on the use of the Photron reflectometer in serological comparisons. *Physiolog. Zool.*, 16, 3 : 229-244.
- BOYDEN, A. and GEMEROY, D., 1950. — The relative position of the Cetacea among the orders of Mammalia, as indicated by precipitin tests. *Zoologica*, 35 : 145-151.
- CEI, J. M., 1963. — Some Precipitin Tests and preliminary remarks on the systematic relationships of four South American Families of Frogs. *The Serol. Museum Bull.* n° 30 : 4-6.
- CEI, J. M., 1965. — The relationships of some Ceratophryid and Leptodactylid genera as indicated by precipitin tests. *Herpetologica*, 20, 4 : 217-224.
- CEI, J. M., 1969. — Tests de precipitinas y relaciones serológicas entre especies del género *Lepidobatrachus* Budgett (Anura, Ceratophryidae). *Physis*, 28, 77 : 273-277.
- CEI, J. M., 1970. — La posición filética de Telmatobiinae, su discusión reciente y significado crítico de algunos inmunotests. *Acta Zool. Lilloana*, 27 : 181-192.
- CEI, J. M., 1972. — Geographical barriers and serological relationships in some African Toads of the *Bufo regularis* complex. *Argu. Museu Bocage*, 2ª Serie : 233-245.

- CEI, J. M., 1972. — Precipitin tests and taxo-serological status of some european toads of *Bufo bufo* group. *Arqu. Museu Bocage*, 2^a Serie, : 385-393.
- CEI, J. M., 1972. — El supuesto origen pelobatideo de Ceratophrydae y las afinidades serológica de Archibatrachia. *Comm. III Jornadas Arg. Zool. Mendoza, Noviembre 1972.*
- CEI, J. M., 1972. — Archibatrachia chia versus Neobatrachia : a first serological approach. *The Serological Museum Bull.* N. 48 : 1-8.
- CEI, J. M., and COHEN, R. 1965. — Serological relationships in the *Leptodactylus pachypus* species group (Amphibia. Salientia). *Copeia*, 2 : 155-158.
- CEI, J. M., and ESPAMER, V. 1965. — Substancias activas de la piel y su interés para las relaciones taxonómicas generales de los Hyllidos. *Acta III Congreso Sudam. Zool. Santiago de Chile, Oct. 1965. Inv. Zool. Chil.* (sous presse).
- CEI, J. M., and ESPAMER, V. 1965. — Relaciones taxonómicas y evolución bioquímica de las aminas biogénicas en el género *Leptodactylus*. *Acta III Congr. Sudam Zool., Santiago de Chile, Oct. 1965. Inv. Zool. Chil.* (sous presse).
- CEI, J. M., & ESPAMER, V. 1965. — Datos cromatográficos sobre los derivados indólicos de la piel de los Bufónidos en relación con su posición sistemática. *Acta III Congr. Sudam. Zool. Santiago de Chile, Oct. 1965. Inv. Zool. Chil.* (sous presse).
- CEI, J. M. and ESPAMER, V., 1966. — Biochemical taxonomy of South American Amphibians by means of skin amines and polypeptides. *Copeia*, 1 : 74-78.
- CEI, J. M., ESPAMER V. and ROSEGHINI, M., 1967. — Taxonomic and evolutionary significance of biogenic amines and polypeptides occurring in Amphibian skin. I. Neotropical Leptodactylid Frogs. *Systematic Zool.*, 16, 4 : 328-342.
- CEI, J. M., ESPAMER, V. and ROSEGHINI, M., 1968. — Taxonomic and evolutionary significance of biogenic amines and polypeptides occurring in Amphibian skin. II. Toads of genera *Bufo* and *Melanophryniscus*. *Systematic Zool.*, 17, 3 :
- CEI, J. M., ESPAMER, V., ROSEGHINI, M., 1972. — Biogenic Amines. Chap. XII : in *Evolution of the Genus Bufo* ». Edit. W. F. Blair. Univ. Texas Press.
- ESPAMER, V., 1959. — Isolation of Leptodactyline (m-hydroxy phenylethyltrimethylammonium) from extracts of *Leptodactylus* skin. *Arch. Biochem. and Biophys.*, 82 : 431-438.
- ESPAMER, V., 1970. — Progress report : Caerulein. *Gut*, 11 : 79-86.
- ESPAMER, V., 1971. — Biogenic Amines and Active Polypeptides of the Amphibian skin. *Annual Rev. of Pharmacol.*, 11 : 327-350.
- ESPAMER, V., ANASTASI, A., BERTACCINI, G. and CEI, J. M., 1964. — Structure and pharmacological actions of physalsermin, the main active polypeptide of the skin of *Physalaemus fuscumaculatus*. *Experientia*, 20 : 489-490.
- ESPAMER, V., BERTACCINI, G. and CEI, J. M., 1962. — Occurrence of bradykinin-like substances in the amphibian skin. *Experientia*, 18 : 563-564.
- ESPAMER, V. and CEI, J. M., 1963. — Approach to a Biochemical Taxonomy through screening of biogenic amines and polypeptides in the skin of South American Amphibians. *Summ. Proc. Contribute Papers XVI Intern. Congr. Zool. Washington : 1963.*
- ESPAMER, V., DE CARO, G. and ENDEAN, R., 1966. — Occurrence of a physalsermin-like polypeptide (uperolein) and other active polypeptides in the skin of *Uperoleia rugosa*. *Experientia*, 22 : 738-739.
- ESPAMER, V., FALCONIERI ESPAMER, G., INSELVINI, M. and NEGRI, L., 1972. — Occurrence of Bombesin and Alytesin in extracts of the skin of three European Discoglossid Frogs and Pharmacological actions of Bombesin on extravascular smooth muscle. *British Jour. Pharmacol.*, 45, 2 : 333-348.
- ESPAMER, V., ROSEGHINI, M. and CEI, J. M., 1964. — Indole, imidazole, and phenylalkylamines in the skin of thirteen *Leptodactylus* species. *Biochem. Pharmacology*, 13 : 1083-1093.
- ESPAMER, V., ROSEGHINI, M., ENDEAN, R. and ANASTASI, A., 1966. — Biogenic amines and active polypeptides in the skin of Australian amphibians. *Nature*, 212, 5058 : 204.
- ESTER, R., 1970. — New fossil Pelobatid Frogs and a review of the genus *Eopelobates*. *Bull. Mus. Comp. Zool.*, 139, 6 : 293-339.
- FORNAS, J. R., 1972. — A second species of Chilean Frog genus *Tsamatobufo*. *J. of Herpetology*, 6, 1 : 1-3.

- INGER, R. F., 1967. — The development of a Phylogeny of Frogs. *Evolution*, 21, 2 : 269-284.
- KLUGE, A. G. and FARRIS, J. S., 1969. — Quantitative phyletics and the evolution of Anurans. *Systematic Zool.*, 18, 1 : 1-32.
- LAURENT, R., 1967. — Taxonomia de los Anuros. *Acta Zool. Lilloana*, 22 : 207-210.
- LAURENT, R., 1972. — La distribution des Amphibiens et les translations continentales. Theme N° 1 — Géographie et liaisons intercontinentales au cours du Mésozoïque. XVII Congrès Internat. de Zool. Monte Carlo, 25-30/9/72, 1-16.
- MORESCALCHI, A., 1966. — Cariologia comparata di *Alytes obstetricans* (Laurenti) e dei Discoglossidae Europei. *Riv. Biol.*, 19 : 3-40.
- MORESCALCHI, A., 1966. — Le relazioni tra il cariotipo di alcuni Anuri Diplasioceli. *Boll. Zool.*, 33 : 165-166.
- MORESCALCHI, A., 1967. — Note citotassonomiche su *Ascaphus truei* Stejn. (Amphibia Salientia). *Att. Soc. Peloritana Sc. fis. mat. nat.*, 13 : 23-30.
- MORESCALCHI, A., 1967. — The close karyological affinities between a *Ceratophrys* and *Pelobates* (Amphibia Salientia). *Experientia*, 23 : 1071-1072.
- MORESCALCHI, A., 1968. — Initial cytotaxonomic data on certain families of Amphibious Anura (Diplasiocoele, after Noble). *Experientia*, 24 : 280-283.
- MORESCALCHI, A., 1968. — The karyotypes of two specimens of *Leiopelma hochstetteri* Fitz. (Amphibia Salientia). *Caryologia*, 21 : 37-46.
- MORESCALCHI, A., 1968. — I cromosomi di alcuni Pipidae (Amphibia, Salientia). *Experientia*, 24 : 81-82.
- MORESCALCHI, A., 1968. — Hypotheses on the phylogeny of the Salientia, based on karyological data. *Experientia*, 24 : 964-966.
- MORESCALCHI, A., 1968. — Observations on the chromosomes of some Leptodactylidae. Actas IV Congreso Latinoamericano de Zoología, (sous presse).
- MORESCALCHI, A., 1968. — Some trends of karyological evolution in the Anura. Actas IV Congreso Latinoam. de Zool. (sous presse).
- MORESCALCHI, A., 1969. — Cytology and Phylogeny. Sommario della comunicazione presentata al « NATO Advanced Study Institute in Vertebrate Evolution » (sous presse).
- MORESCALCHI, A., 1970. — Karyology and Vertebrate Phylogeny. *Boll. Zool.*, 37 : 1-28.
- MORESCALCHI, A., 1971-2. — Comparative karyology of the Amphibia. *Boll. Zool.*, 38 : 317-320.
- MORESCALCHI, A., 1973. — Amphibia. In : Cytotaxonomy and Vertebrate Evolution. B. Chiarelli and E. Campagna Eds., Academic Press. : 233-346.
- NOBLE, G. K., 1931. — The Biology of the Amphibia. Graw Hill. Ed., N. Y. 577 pp.
- TYLER, M. J., 1971. — The phylogenetic significance of vocal structure in Hylid Frogs. *Univ. Kansas Public. Mus. Nat. Hist.*, 19, 4 : 319-360.



DISCUSSION

A la suite des communications du Professeur R. F. Laurent et du Professeur J. M. Cei.

Intervention du Professeur R. Hoffstetter :

J'ai été très intéressé par la vision mondiale des relations phylétiques et de l'histoire des Liissamphibiens que viennent de nous offrir les Prof. Laurent et Cei. Je ne puis malheureusement apporter qu'une contribution modeste à ce débat, car bien des familles considérées sont inconnues à l'état fossile.

Toutefois, je crois utile de signaler la publication récente (*Palaeovertebrata*, juillet 1972) d'un petit travail de M^{me} Vergnaud-Grazzini et de moi-même, établissant pour la première fois la présence de Palaeobatrachidés dans des gisements français (Cernsy, Laugne, Sansan) et précisant les caractères de la famille, ainsi que son extension verticale et horizontale. D'après les documents publiés, la famille n'est connue avec certitude qu'en Europe, depuis le Paléocène (Cernsy) jusqu'à la limite Plié-Pliocène (Pologne et Roumanie occidentale). Il s'y ajoute un fossile découvert par l'équipe de W. Kühne dans le Jurassique supérieur de Catalogne : je n'ai pas vu la pièce, mais Z. Spinger (dont on connaît la haute compétence sur ce groupe) l'interprète comme un vrai Paléobatrachidé, tandis que Seiffert (publication récente) y reconnaît des traits de Paléobatrachidés et de Ranidés. Rien ne permet d'établir la présence de la famille en Asie. En ce qui concerne l'Amérique du Nord (où certains restes de l'Éocène avaient été attribués à tort aux Psalobatrachidés), je ne puis évidemment préjuger des indications inédites (Estes et Reig) mentionnées par le Prof. Laurent. De toute façon, il s'agit d'un groupe laurasien d'origine ancienne mais il est loin d'être certain qu'il ait occupé toute la Laurasia.

Assurément, les Paléobatrachidés, très aquatiques, ont eu un mode de vie comparable à celui des Pipidés qui, eux, sont essentiellement gondwaniens (je rejoins M. Laurent sur ce point : dans la note citée, nous remarquons que le gisement crétacé israélien qui a livré des Pipidés à Nevo se situait à cette époque au Sud de la Tethys et n'autorise donc pas l'hypothèse d'une origine asiatique du groupe).

Je ne puis cependant suivre M. Hecht quand il place les Paléobatrachidés parmi les Aglosses. Certes cette famille présente des caractères communs avec les Pipidés, comme l'a déjà vu Wolstenstorf, traduisant peut-être des adaptations parallèles. Mais de nombreux autres traits séparent les deux familles et même une observation de Spinger sur un spécimen bohémien permet de supposer l'existence d'une langue chez les Paléobatrachidés.

Le Professeur G. Hellflier pose une question sur la dispersion des Urodèles.

Seconde intervention du Professeur R. Hoffstetter :

En réponse à la question du Dr Hellflier, je puis préciser que, au début du Tertiaire, des échanges faunistiques ont certainement eu lieu entre l'Amérique du Nord et l'Europe par voie nord-atlantique (Greenland) ; à ce moment un bras de mer ouralien séparait l'Europe de l'Asie (voir Kurten). Les exemples les plus connus concernent les Mesemiferes (*Hyacotherium*, *Peratherium*, etc.). Et nous avons été conduits, J.-C. Ruge et moi-même (*Ann. Paléont.*, 1972) à envisager le passage de Serpents Érycinés par cette même voie pour rendre compte de la distribution de cette sous-famille de Boidés.

La communication groenlandaise s'interrompt avant la fin de l'Éocène. Plus tard, au cours de l'Oligocène, la barrière marine ouralienne disparaît et d'autres échanges se produisent entre l'Amérique du Nord et l'Eurasie, cette fois par le « pont » de Behring.

Intervention du Professeur A. Morascolchi :

The karyological data collected by myself have been interpreted in some different ways by the two relaters; in general, I agree with Laurent's conclusions, save one point; however, I must observe the knowledge of my data to another occasion, as I have written on the subject a long chapter, now in press, that cannot be summarised here.

The point of disagreement with Laurent's hypothesis is that regarding a possible duality between geographic distribution of the most primitive frogs families. Indeed, the presence of *Aeacophus* in North America and the northern distribution of the derived *Discoglossids*, may be signs of a paucigenic radiation of the *Aeacophids* in early Mesozoic.

*Intervention du Professeur R. F. Laurent :**Question.*

1. Comment faut-il interpréter la valeur relativement basse observée entre deux espèces du genre *Bufo*, et de quelles espèces s'agissait-il ?
2. Les valeurs observées entre *Rana* et *Ptychocephalus* ou *Rana* et *Ptychadena* confirment la grande hétérogénéité du genre *Rana* sensu lato, pourtant niée par Zurger sous prétexte de leurs ressemblances écologiques.
3. La convergence est toujours possible même pour certains complexes de caractères reliés par des déterminismes adaptatifs ou autres (caryologie, sérologie, ...)
4. *Ascaphus* peut-être un « pré-Discoglosside ». A ce niveau les affinités, reposant sur l'absence de spécialisations, peuvent être plus apparentes que réelles.

Réponse du Professeur J. M. Ceï :

Il s'agit plutôt de plusieurs espèces du genre *Bufo* qu'on rencontre souvent à des distances sérologiques remarquables. *Bufo variegatus* du Chili, par exemple, donne des valeurs relativement basses avec les crapauds du groupe *spinulosus*, sympatrides. On peut interpréter ces résultats dans le domaine des affinités sérologiques, en considérant ce genre en processus actif de différenciation évolutive, ce qui peut bien se rattacher à la différenciation génétique des systèmes d'antigènes, qui sont toujours à la base des réactions spécifiques homo-hétérologues des précipitines.

Cet argument peut s'appliquer également à la différenciation de ce « super-genre » classique, l'ancien taxon *Rana*, dont M. le Prof. Laurent vient de souligner la grande hétérogénéité, indépendamment des ressemblances écologiques. Sans doute la convergence doit jouer un grand rôle dans l'établissement de caractères apparemment indépendants, quoique reliés par leurs déterminismes adaptatifs.

Il n'y a pas de données détaillées sur *Ascaphus* et sa position « pré-Discoglosside » du point de vue des observations sérologiques. Toutefois, même l'absence de différenciation reposant sur l'absence de spécialisation, rappelée ici par le Prof. Laurent peut signifier un argument suggestif sur la primitivité et l'indépendance phylétique des Archæobatrachia.

Seconde intervention du Professeur A. Morescalchi (après la communication du Professeur Ceï) :

It is probable that *Bufo regularis* is a heterogenous complex of species, also from a cytogenetic point of view ; in fact, Griffin *et al.* (1970) have found that *B. regularis pardadis* has $2n = 22$ chromosomes, instead than $2n = 20$ as the other species of the *regularis* complex.